Über die Saccharide der Grün- und Rotalgen

Inaugural - Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde

der

Hohen Naturwissenschaftlichen Fakultät

der

Julius-Maximilians-Universität Würzburg

vorgelegt von

Dipl. Chem. Rudolf Agricola

geboren in Königsberg/Ostpr.

Würzburg 1956

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41543517_0002

Über die Saccharide der Grün- und Rotalgen

Inaugural - Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde

der

Hohen Naturwissenschaftlichen Fakultät

der

Julius-Maximilians-Universität Würzburg

vorgelegt von

Dipl. Chem. Rudolf Agricola

geboren in Königsberg/Ostpr.

Würzburg 1956

Berichterstatter: Prof. Dr. F.G. F i s c h e r

Eingereicht am: 5. 11. 1956.

Tag der mündlichen Prüfung: 12. 12. 1956.

R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

Die vorliegende Arbeit wurde in der Zeit von Februar 1955 bis Juli 1956 im Chemischen Institut der Universität Würzburg unter der Leitung von Herrn Professor Dr. F.G. Fischer ausgeführt.

Besonders herzlich danke ich meinem verehrten Lehrer, Herrn Professor Dr. F.G. Fischer, für das mir jederzeit entgegengebrachte Wohlwollen und die großzügige Förderung dieser Arbeit.

Meinen lieben Eltern
in Dankbarkeit gewidmet

Inhaltsverzeichnis

		Seite
A.	Einleitung	1 - 3
B.	Allgemeiner Teil	
I.	1.) Die Saccharide der Grünalgen	4 - 11
	2.) Bestimmung sonstiger in den Grünalgen vorhandener Stoffe	12 - 13
II.	1.) Die Saccharide der Rotalgen	14 - 16
	2.) Zur Bestimmung der Saccharide in Agar	17 - 22
	3.) Die Bestimmung der Hydrolysenrückstände einiger Rotalgen	23 - 24
III.	Diskussion der Ergebnisse	
	1.) Grünalgen	25 - 29
	2.) Rotalgen	30 - 31
IV.	Zusammenfassung	32 - 33
C.	Experimentalteil	
	1. Bestimmung des Glührückstandes	34
	2. Ausführung der Hydrolyse	34 - 35
	3. Herstellung der Gerüstsubstanzen	35 - 36
	4. Papierchromatographische Bestimmung der Zucker	36 - 38
	5. Die Hydrolyse von Agar und die Bildung von Oxymethylfurfurol (OF) aus 3,6-Anhydrogalactose (AG)	38 - 40
D.	Literaturangaben	41 - 45

A. Einleitung

Unser derzeitiges Wissen über Vorkommen und Mengenverhältnisse der verschiedenen Polysaccharide und einfachen Zucker in der Natur muß als verhältnismäßig mager bezeichnet werden, obwohl die Polysaccharide als Gerüst- und Reservestoffe einen mengenmäßig bedeutenden Anteil der meisten Pflanzen ausmachen. Diese Unkenntnis erklärt sich jedoch daraus, daß die bisherigen Untersuchungsmethoden für die qualitative und quantitative Erfassung der Saccharide nicht ausreichend waren.

Es liegt in der Natur der Sache, daß besonders die Erforschung der Kohlenhydrate jener Pflanzen zu kurz gekommen ist, deren technische und wirtschaftliche Bedeutung vorderhand nicht groß ist. Die Polysaccharid-Chemie der Algen betreffend zeigt sich dieses deutlich in der spärlichen Zahl von Arbeiten über die große und weitverbreitete, volkswirtschaftlich jedoch bisher bedeutungslose Familie der Chlorophyceen, im Gegensatz zu den bedeutend zahlreicheren Publikationen über Rhodophyceeen. Die in Schottland vereinzelt gepflogene Verwendung der Grünalge Ulva lactuca (Meersalat) zur Bereitung von Salaten, stellt einen kuriosen Ausnahmefall dar (40).

Unter den Grünalgen sind in Bezug auf ihre chemische Zusammensetzung am besten mehrere einzellige und Zellkolonien bildende Algenarten untersucht worden, von denen einigen wegen ihres hohen Gehaltes an Fetten, Eiweiß und Vitaminen eine gewisse Bedeutung für die menschliche Ernährung zukommen kann (8). In Japan werden diese Algen bereits als Zusätze für manche Nahrungs- und Genußmittel wie Suppen, Soßen, Speiseeis etc. verwendet (41).

In diesen und auch anderen Grünalgenordnungen vorhandene Polysaccharide und einfache Zucker sind bislang jedoch nicht oder nur ungenügend erfaßt worden (9), (10). Zu ihrer Charakterisierung dienten bis auf wenige Ausnahmefälle, in denen die Zucker isoliert wurden, unsichere Gruppenreaktionen - z.B. auf Ketosen, Pentosen, Methylpentosen - oder mikrochemische, nicht unbedingt spezifische Anfärbemethoden in der Zelle. Eine zusammenhängende Übersicht über in Grünalgen vorkommende Monosaccha-

ride nach der Hydrolyse, wie sie für 26 Rotalgen von A.G. Ross wenigstens in qualitativer Hinsicht gegeben wurde (42), fehlt hier ganz.

Die Untersuchung von Algenpolysacchariden erstreckt sich vor allem auf die Schleim- und Gelstoffe der Braunalgen (Alginsäuren(6, 10, 11))und Rotalgen (Carrageen, Agar, Floridastärke, Floridoside (10)). Über den Gesamtgehalt an Kohlenhydraten in diesen Pflanzen und die Mengenverhältnisse ist jedoch ebenfalls wenig bekannt (12).

Kürzlich wurde von F.G. Fischer und H. Dörfel eine Methode zur serienmäßigen, quantitativen Bestimmung von Zuckern auf Papierchromatogrammen ausgearbeitet (4), die auf der Reduktion von Triphenyltetrazoliumhydroxyd (TTC-Base) zum roten Formazan, eluieren der Farbflecken und photometrieren der Farblösung beruht. Die durchschnittliche Streuung beträgt bei einer Mittelwertbildung aus jeweils drei Messungen für die Analysen- und Vergleichslösung 2-4 %. In vorliegender Arbeit wurden bei den Grünalgen zwei Messungen und bei den Rotalgen eine Messung pro Analyse ausgeführt, so daß die Genauigkeit ca. $\pm$ 5 bzw. $\pm$ 10 % der tabellierten Werte betragen dürfte.

Weiterhin haben F.G. Fischer und H. Nebel am Beispiel vieler Pilze optimale Bedingungen zur Hydrolyse der darin enthaltenen Polysaccharide nach einer leicht zu handhabenden Arbeitsweise mit Schwefelsäure festgelegt (2).

Auf Grundlage dieser Methoden wurde in vorliegender Arbeit eine Anzahl von Grün- und Rotalgen sowie drei Diatomeen und eine Myxophycee auf die qualitative und quantitative Zusammensetzung an einfachen neutralen Zuckern geprüft. Der Gehalt an Uronsäuren wurde nicht untersucht. Die analysierten Grün- und Rotalgen sind in den Tabellen jeweils von 1 angefangen mit fortlaufenden arabischen Ziffern nummeriert worden, bei den Rotalgen unter Zusatz des Index r.

Um die Analysenergebnisse für die vorhandenen Algen reproduzierbar zu gestalten, arbeitete der Verfasser zur Bestimmung des Glührückstandes und Feuchtigkeitsgehaltes, sowie bei der Herstellung der Gerüstsubstanzen und Hydrolysate mit standartisierten Bedingungen, wie sie im Experimentalteil näher beschrie-

ben sind. Trotz dieser Maßnahmen dürfen die ermittelten quantitativen Verhältnisse nicht verallgemeinert werden. Die relativen Konzentrationen der verschiedenen Saccharidanteile jeder Alge können je nach Standort, Tages- und Jahreszeit usw. Schwankungen unterliegen, die soweit Untersuchungen darüber vorliegen, erheblich sein können.(1) Bei Algen, die in Kulturen gezüchtet wurden, ist die Zusammensetzung in besonders hohem Grade von den Kulturbedingungen abhängig. Die ausgeführten Analysen können daher, außer dem qualitativen Nachweis der verschiedenen Zucker nur einen ersten Überblick über die Mengenverhältnisse in den verschiedenen Algenarten geben.

Die Konzentration an Mono- und Oligosacchariden ist bei den allermeisten Algen verschwindend gering in Vergleich zu jener an Polysacchariden (53). Es läßt sich daher aus der Monosaccharid-Zusammensetzung des Hydrolysates einer Alge auch ein Rückschluß ziehen auf ihre Polysaccharid-Zusammensetzung. Ebenso können nach Darstellung der Gerüstsubstanzen die in ihnen vorhandenen Polysaccharide bestimmt werden.

Die systematische Einordnung der einzelnen Algenarten wurde nach dem zweibändigen Werk von F.E. Fritsch: "The structure and reproduction of the algae" (9) vorgenommen.

B. Allgemeiner Teil

I. 1) Die Saccharide der Grünalgen

Von den nach F.E. Fritsch (9) in die neun Ordnungen

I. Volvocales
II. Chlorococcales
III. Ulotrichales
IV. Cladophorales
V. Chaetophorales
VI. Oedogoniales
VII. Conjugales
VIII. Siphonales
IX. Charales

eingeteilten Grünalgen wurden 17 Arten aus den sechs Ordnungen II, III, IV, VII, VIII, IX untersucht.

Die Ergebnisse sind in Tabelle I S. 10 wiedergegeben. Eine bei F.E. Fritsch nicht erwähnte Art, Bryophylla plumosa, wurde ohne systematische Zuordnung an den Schluß der Tabelle gestellt.

Nachfolgende Ausführungen geben eine zusammenfassende Interpretierung der Tabellenwerte und darüber hinaus gemachter Versuche.

A. Chlorococcales

Von den Einzelleralgen wurden folgende vier Chlorococcalen untersucht: 1.Scenedesmus obliquus, 2. Scenedesmus quadricauda, 3. eine kleinzellige Chlorella, 4. Ankistrodesmus falcatus. Glucose bildet den mengenmäßig bedeutendsten Teil in allen vier Algen; sie stammt aus Zellulose und Stärke. Unter den anderen Zuckern ist Mannose und Galactose in höherem Maße vertreten. Auffallend ist der, wenn auch nur geringe Gehalt an Rhamnose in den ersten drei Arten. Dieser Zucker wurde zu größeren Anteilen in den Ulotrichalen Ulva und En-

teromorpha aber auch sonst in verschiedenen Arten gefunden. Er scheint bei den Grünalgen verbreiteter zu sein als es bisher bekannt ist. 4 weist einen besonders hohen Gehalt an Glucose auf; Ribose und Rhamnose fehlen hier. Alle vier Algen enthalten Xylose in Spuren, Chlorella etwas mehr. Arabinose wurde mit Ausnahme von 4 ebenfalls in Spuren gefunden. Die in den Scenedesmusarten und 3 gefundene Ribose dürfte aus Nucleinsäuren stammen, wie bei allen anderen Arten auch

In der Literatur findet sich eine Angabe über den angeblich hohen Gehalt an Fructose in Chlorella-Arten; er soll ungefähr eben so hoch wie der Traubenzuckergehalt sein (41). Wir prüften daher alle vier Chlorococcalen eingehend auf diesen Zucker. Da Fructane einerseits leicht hydrolysierbar, andererseits Fructose leichter zu zerstören ist als andere Zucker, wurden zu ihrem Nachweis die Algen nur 10 min. mit 0,5n H_2SO_4/100° hydrolysiert. Die im Reagensglas ausgeführte Seliwanoff'sche Reaktion auf Ketosen mit Resorcin/HCl war negativ und auch im Chromatogramm wurde kein Fructosefleck erhalten. Wir können demnach einen größeren Fructosegehalt von Chlorella nicht bestätigen; auch in den drei übrigen Einzelleralgen war dieser Zucker abwesend.

In 1 wurde auf wasserlösliche Polysaccharide und einfache Zucker geprüft. 9 g der Alge wurden 2 Stunden mit destilliertem Wasser gekocht, die festen Bestandteile abzentrifugiert und die überstehende Flüssigkeit auf dem Wasserbade im Vakuum eingeengt. Einfache Zucker waren darin nicht enthalten. Nach der Hydrolyse mit Schwefelsäure konnten in abnehmender Menge Ribose, Rhamnose, Galactose, Glucose, Mannose und Xylose nachgewiesen werden. Es hatten sich also die Polymeren sämtlicher Zucker bis zu einem gewissen Grade herausgelöst. Im Hydrolysat der extrahierten Alge wurde nur noch Glocuse und Mannose gefunden (Glucose > Mannose).

In dem nicht hydrolysierten wäßrigen Kochextrakt von 4 wurden Spuren von Galactose und Glucose nachgewiesen.

B. Ulotrichales

Von den vier Untergruppen dieser Ordnung wurden zwei Ulvaceen 5. Ulva lactuca und 6. Enteromorpha compressa untersucht. Die in Tabelle I B zusammengestellten Ergebnisse zeigen, daß in beiden Arten drei Zucker vorherrschen: Glucose, Rhamnose und Xylose. Die übrigen Zucker Galactose, Mannose, Arabinose und Ribose sind nur in Spuren vorhanden. Die Seliwanoff'sche Ketosereaktion verlief negativ; kein Fructosefleck auf dem Chromatogramm. Fructose oder eine andere Ketose sind demnach nicht anwesend.

Durch Behandeln mit kochendem Wasser wurde ein Teil des Rhamnans und Xylans herausgelöst. In der extrahierten Alge waren diese Zucker nach der Hydrolyse aber immer noch gut nachweisbar.

Zellulose wurde in der durch Auskochen mit Natronlauge bereiteten Gerüstsubstanz von 5 durch Blaufärbung mit Chlorzink-Jod nachgewiesen. Die Xylane werden erst durch längeres Kochen mit 4%igem Alkali völlig entfernt; in einem mit kochender 1%iger Lauge zuerst hergestellten Präparat war neben 68,8 % Glucan 9,9 % Xylan vorhanden.

Zwischen den aus Neapel und Sylt bezogenen Exemplaren von 5 und 6 bestand kein Unterschied in der Kohlenhydratzusammensetzung.

C. Cladophorales

In den Cladophora-Arten 7. Chaetomorpha linum, 8. Cladophora rupestris (Kütz) und 9. Clad. utriculosa ist nach der Hydrolyse neben der wohl vorwiegend aus Gerüstzellulose stammenden Glucose - bei 7 durch die Chlorzink-Jod-Reaktion nachgewiesen - hauptsächlich der relativ hohe Gehalt an Araban hervorzuheben. In 7, die am meisten Arabinose enthält, beträgt er ca. 22 %, in 8 ca. 18 %, in 9 ca. 15 % der gefundenen Zuckermenge.

In 7 wurden noch geringe Mengen an Ribose und Rhamnose gefunden, welche bei den beiden anderen Arten fehlten. Galactose ist in allen drei Cladophoralen vorhanden, ebenso Xylose.

D. Conjugales

Eine Spirogyraart 10. enthielt unter anderem ziemlich viel Rhamnose, s. Tab. I D.

E. Siphonales

Unter den Grünalgen sind nach unserer Feststellung die Siphoneen sowohl unter sich, als auch von den anderen Grünalgen in Bezug auf ihre Zuckerzusammensetzung deutlich differenziert. Von den neun Unterordnungen dieser Gruppe wurden eine Caulerpacee 11., eine Dasycladacee (Acetabularia) 12., drei Codiaceen 13.-15. und eine Vaucheriaart 16. untersucht.

Caulerpaceae. - Bei 11 fällt sofort der hohe Gehalt an Xylan (26,2 %) ins Auge. Die drei außerdem noch vorhandenen Zucker treten mit 12,4 % (Glucan), 6,9 % (Galactan) und $< 0,5$ % (Mannan) deutlich zurück. Dieses Ergebnis konnte vermuten lassen, daß die Hauptschicht der Zellwand aus Xyloseeinheiten aufgebaut ist.

Zur Gerüstherstellung wurde die Alge wie üblich mit 1%iger Natronlauge behandelt, zum Schluß die alkalische Lösung mit Salzsäure kongosauer gemacht und noch einige Zeit weiter gekocht. Beim Betupfen mit Zinkchlorid-Jodlösung konnte die für Zellulose recht charakteristische Blaufärbung nicht erhalten werden. Das Hydrolysat zeigte auf dem Papierchromatogramm nur den Xylosefleck. Weitere Zucker waren darin nicht mehr enthalten.

Leider standen uns aus der Unterordnung der Caulerpaceen keine weiteren Exemplare zur Verfügung; wir nehmen jedoch an, daß der Aufbau der Hauptlamelle aus Xylan ein für diese Gruppe spezifisches Kennzeichen ist. Für die Abwesenheit von Zellulose als Membransubstanz sprechen auch die in der Diskussion behandelten Ergebnisse früherer Arbeiten.

Dasycladaceae (Acetabularieae) und Codiaceae. - Die Algen 12. Acetabularia mediterranea, 13. Codium elongatum, 14. Codium tomentosum und 15. Codium Bursa zeigen alle einen bemerkenswert hohen Gehalt an Mannose. In Acetabularia ist überdies als e i n z i g e r aller hier behandelten Algen eine Ketose,

Fructose, festgestellt worden. Der geringe Gehalt an Glucan (2%) zeigt, daß höchstens ein kleiner Teil der Fructose an Glucose gebunden als Rohrzucker vorliegen kann.

Die bei der Hydrolyse gebildete Fructose wurde sowohl durch die eindeutig positive Seliwanoffreaktion, wie auf dem Papierchromatogramm nachgewiesen. Bei einem Versuch Acetabularia mit verd. kalter Salzsäure zu entkalken, fand sich infolge der bekannten leichten Hydrolysierbarkeit von Fructanen ein großer Teil der Fructose in der sauren Lösung vor. Durch 11 stündiges Kochen mit Wasser konnte der Alge ein ziemlich großer Teil des Fructans , jedoch nicht alles entzogen werden; im ganzen trat ein Gewichtsverlust von 39,6 % ein.

Zur Feststellung, in welchem Teil der Alge die Hauptmenge des Fructans angereichert ist, untersuchten wir Schirmchen und Stiele gesondert. Es zeigt sich, daß die Schirmchen den größten Fructangehalt aufweisen, während die Stiele außer Spuren von Fructan und einigen andern Zuckern zu annähernd 60 % aus Mannan bestehen. In der Gerüstsubstanz wurde nach der Hydrolyse als einziges Monosaccharid Mannose gefunden. Demnach ist ein Fructan Assimilationsprodukt und Reservesaccharid von Acetabularia, ein Mannan ihre Gerüstsubstanz.

In 13, 14 und 15 finden sich Galactose und Glucose neben der mengenmäßig überwiegenden Mannose, in 15 außerdem etwas Xylose und Spuren von Arabinose. Der Mannangehalt ist in 15 besonders hoch; während in 12, 13, 14 ein Verhältnis von Glucan : Galactan : Mannan $\sim$ 1:1:6 vorliegt, beträgt es in 15 $\sim$ 1:1:12. Fructose wurde in den Codiumarten nicht gefunden.

Bei der Gerüstsubstanz von 13 war nur Mannose nach der Hydrolyse nachweisbar.

Vaucheriaceae. Die einzige untersuchte Vaucheriaart 16. enthielt als Hauptkohlenhydrat Glucan. Blaufärbung mit Jod-Schwefelsäure (75%ige) deutet auf Zellulose als Gerüstsubstanz.

F. Charales

Von dieser den höheren Pflanzen näher stehenden Grünalgenordnung stand uns ein Exemplar zur Verfügung, bei dem es sich

wahrschinlich um eine Chara foetida handelt, 17. Der Thallus und die Rhizoide wurden getrennt untersucht, ohne jedoch wesentliche Unterschiede feststellen zu können. Die vorwiegenden Zucker in beiden Teilen waren (nach abnehmender Konzentration geordnet): Glucan, Xylan, Mannan und Araban (Spuren). Lediglich Ribose und Rhamnose, die in den Rhizoiden nicht gefunden wurden, waren in den grünen Teilen in Spuren vorhanden.

G. Bacillariophyceae; H. Myxophyceae.

Die letzten 4 in Tabelle I aufgeführten Algen sind keine Chlorophyceen, sondern 3 Diatomeen 18-20 und eine Cyanophycee 21. Bei den Diatomeen ist zu berücksichtigen, daß sie im Freien gefunden und daher nicht rein, sondern mit anderen Arten gemischt sind. Die in der Tabelle angeführten Namen beziehen sich auf die vorwiegend - zu ca. 70-90 % - im Gemisch enthaltene Art. Eine sichere Antwort darauf, ob Unterschiede in der Kohlenhydratzusammensetzung innerhalb dieser Klasse oder zu anderen Klassen vorliegen, wird erst die Untersuchung einer größeren Anzahl in Reinkulturen gezüchteter Exemplare geben können. Die drei Diatomeen enthielten alle auffallend viel Xylan, in 20 hoher Galactangehalt. Glucan (Zellulose, Stärke) wurde nur wenig gefunden.

Tabelle I

Grünalgen

% Monosaccharid-Anhydrid pro aschefreie Trockensubstanz.

	a Gal	b Glu	c Man	d Fru	e Ara	f Xyl	g Rib	h Rha	Summe a-h	Glü
. Chlorococcales										
a) Coelastraceae										
1. Scenedesmus obliquus	1,1	7,6	2,0	-	Sp.	Sp.		Sp.	10,7	15,8
2. Scenedesmus quadricauda	1,9	7,9	2,3	-	Sp.	Sp.	Sp.	Sp.	12,1	28,2
b) Chlorellaceae										
3. Chlorella (kleinzellige)	3,3	5,3	2,3	-	Sp.	1,0	Sp.	Sp.	11,9	16,5
c) Selenastraceae										
4. Ankistrodesmus falcatus	1,1	28,2	3,9	-	-	Sp.		-	33,2	19,5
. Ulotrichales										
a) Ulvaceae										
5N Ulva lactuca	Sp.	3,8	-	-	Sp.	2,5		7,8	14,1	25,2
5S " "	+	++	Sp.	-	Sp.	++		++		
5 " " Gerüst	-	90,0	-	-	-	-	-	-	90,0	10,1
6N Enteromorpha compressa	1,0	8,1	Sp.	-	Sp.	4,0		6,5	19,6	37,9
6S " "	Sp.	16,0	Sp.	-	Sp.	6,6	Sp.	7,1	29,7	11,2
. Cladophorales										
7 Chaetomorpha linum	3,7	44,8	-	-	14,1	1,2	Sp.	Sp.	63,8	15,0
7 " " Gerüst	-	72,0	-	-	-	-	-	-	72,0	2,3
8 Cladophora rupestris	6,0	28,4	-	-	7,7	1,1		-	43,2	11,0
9 Cladophora utriculosa	4,0	27,0	-	-	4,3	2,4		-	38,2	35,0
. Conjugales										
10 Spirogyra	6,2	6,9	Sp.	-	1,6	4,7		2,1	21,5	10,0

Zeichenerklärung:

Gal = Galactose
Glu = Glucose
Man = Mannose
Fru = Fructose
Xyl = Xylose
Rib = Ribose
Rha = Rhamnose
Glü = Glührückstand

	a Gal	b Glu	c Man	d Fru	e Ara	f Xyl	g Rib	h Rha	Summe a-h	Glü
E. Siphonales										
a) Caulerpaceae										
11. Caulerpa prolifera	6,9	12,4	Sp.	-	-	26,2		-	45,5	22,6
11. " Gerüst	-	-	-	-	-	58,3	-	-	58,3	0,5
b) Dasycladaceae										
12. Acetabularia mediterranea	1,8	2,0	9,5	15,4	-	Sp.		Sp.	28,7	48,0
12. " Stiele	Sp.	Sp.	56,0	Sp.	-	Sp.		-	56,0	58,2
12. " Schirme	3,4	7,3	17,9	21,1	-	Sp.		Sp.	49,7	38,0
12. " Gerüst	-	-	89,9	-	-	-	-	-	89,9	0,8
c) Codiaceae										
13. Codium elongatum	2,4	2,4	18,5	-	-	-		-	23,3	63,2
13. " Gerüst	-	-	+	-	-	-	-	-		
14. Cod. tomentosum	2,4	2,4	15,8	-	-	-		-	20.6	50,1
15. Cod. Bursa	5,2	5,9	68,9	-	Sp.	4,2	-	-	84,2	31.8
d) Vaucheriaceae										
16. Vaucheria	Sp.	21,2	Sp.	-	Sp.	0,7	Sp.	Sp.	21,9	41,0
F. Charales										
17. Chara foet.	-	14,8	1,2	-	Sp.	1,4	Sp.	Sp.	17,4	43,0
G. Bacillariophyceae										
18. Cymbella	+	+	-	-	-	++		-		87,9
19. Melosira varians	Sp.	+	Sp.	-	-	++	Sp.	-		
20. Navicula, Surirella, Pleurogyre, Melosira	12,9	4,7	-	-	-	8,0		-	25,6	64,6
H. Myxophyceae										
21. Oscillatoriacea	-	11,0	-	-	-	Sp.	1,0	0.5	12,5	
22. Bryophylla plumosa	1,2	7,7	-	-	-	12,0		-	20,9	33,7

2.) Bestimmung sonstiger in den Grünalgen vorhandener Stoffe

In Tabelle II ist die Summe von Protein-, Saccharidanhydrid- und Aschegehalt gebildet; sie beträgt ca. 55-76 %. Die Differenz zu 100 % kann auf stickstoffreie Extraktivstoffe, Lipoide und unlösliche Stoffe zurückgeführt werden. Der Lipoidgehalt von Ulva lactuca, bestimmt durch Alkohol-Benzolextraktion, betrug 9,3 %; er ist zu dem Tabellenwert zu addieren.

Der Stickstoffwert wurde auf Protein bezogen. Der Gehalt an Chlorophyll ist gering. In Ulva lactuca (Neapel) wurde durch Extraktion und Photometrieren 0,8% Chlorophyll a + b gefunden. Chlorophyll enthält im Durchschnitt 8,5 % N, Eiweiß 16,5 % N. Wird der Bruchteil des auf Chlorophyll entfallenden Stickstoffs irrtümlich auf Protein bezogen, so ergibt sich demnach ein Minderbetrag von nur 0,4 %, der in der Tabelle nicht berücksichtigt wurde.

Lignin scheint in Algen nicht vorzukommen; es wurden jedoch in verschiedenen Fällen nicht hydrolysierbare, methoxyl- und aldehydgruppenfreie Stoffe bis zu 25 % gefunden (3 b S.169), (s. auch unsere Ergebnisse bei den Rotalgen).

Über die Variation der Bestandteile im Zusammenhang mit der Jahreszeit istbei Grün- und Rotalgen im Gegensatz zu den Braunalgen nichts bekannt (10).

Aus der Gruppe der Bryophyten ist vergleichsweise eine Hepaticee - Marchantia polymorpha - in Tabelle II am Schluß mitaufgeführt.

- - - - - - - -

Anmerkung zu Tabelle I. Die Bestimmung und Zusendung der Exemplare der Algenarten 5N, 6N, 8, 9, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 21, 22 verdanken wir Herrn Professor Dr. O. Volk, Botanisches Institut der Universität Würzburg. 5N, 6N, 8, 9, 11, 13, 14, 22 wurden von ihm im Golf von Neapel April 1954 ; 15 bei Montpellier, Frankreich , 12 bei Opatija Anfang August (Dalma-

Tabelle II

Stickstoff-, Kohlenhydratanhydrid- und Aschewerte bezogen auf aschehaltige Trockensubstanz.

	% N	a N-Wert mit 6 multipli-ziert; % Protein	b % Saccha-ridanhy-drid	c Asche-gehalt	Summe a+b+c
5 N	3,02	18,1	11,2	25,2	54,5
6 N	3,50	21,0	12,2	37,9	71,7
9	2,69	16,1	24,8	35,0	75,9
Marchantia polymorpha (Lebermoos)	4,19	25,1	21,5	22,2	68,8

tinische Küste) ; 16 und 21 im Botanischen Garten der Universität Würzburg gesammelt.

Die Exemplare der Algen-Arten 5S, 6S, 7 wurden uns freundlicherweise von Herrn Sahling, Biologische Anstalt, Helgoland, List auf Sylt, zur Verfügung gestellt, der sie im November 1955 sammelte und bestimmte.

Nr. 10 stammt aus einem Teich der biologischen Versuchsanstalt München und wurde uns von Herrn Dr. K. Offhaus zugesandt.

Die Bestimmung von 18, 19, 20 verdanken wir Herrn Studienrat Dr. Bock, der sie in der Umgebung Würzburgs sammelte.

Die Chlorococalen 1, 2, 3, 4 erhielten wir von der Kohlenstoffbiologischen Forschungsanstalt in Essen.

Nr. 17 ist vom Verfasser aus einem Teich des Gartens der Residenz zu Würzburg im Januar 1956 gesammelt und von Herrn Dr. Bock, Würzburg, bestimmt worden.

II. 1.) Die Saccharide der Rotalgen

Von der durch die botanische Systematik in zwei große Gruppen, A Florideae und B Bangioideae, unterteilten Familie der Rhodophyceen wurden von A 35, von B 2 Arten und ein Agarpräparat papierchromatographisch untersucht. Eine Rotalge, Kalymenia reniformis, in dem Werk von F.E. Fritsch nicht erwähnt (9), ist in Tabelle V gesondert aufgeführt. Wie bei den Grünalgen sollen im folgenden die Analysenergebnisse zusammenfassend besprochen werden.

Tabelle II zeigt, daß die untersuchten Rotalgen Saccharide enthalten, die aus Galactose, Glucose, Mannose, Xylose und Fucose aufgebaut sind. Von diesen 5 Zuckern sind jedoch nur Galactose und Glucose in allen Algen vertreten, und zwar bildeten bei 30 von den insgesamt 38 untersuchten Arten Galactane den Hauptanteil der vorhandenen Kohlehydrate. Bei den übrigen 8 Rotalgen dominierte in Gracilaria confervoides, Polysiphonia nigrescens, Polysiphonia elongata, Gelidium corneum ein Glucan, in Gracilaria armata, Rhodymenia palmata ein Xylan, in Nemalion helminthoides und Bangia atropurpurea ein Mannan. In Nemalion helminthoides ist der Mannangehalt allerdings fast eben so hoch wie der an Xylan. Die Konzentration an Fucose war stets gering; Ribose wurde vereinzelt in Spuren nachgewiesen.

Der besonders hohe Xylangehalt in Rhodymenia palmata veranlaßte uns, das "Gerüst" dieser Alge herzustellen und auf seine Zusammensetzung zu prüfen. Dazu wurde die Alge nach Entfernung der Lipoide mit Aceton-Benzol mit kochendem Wasser und danach mit 4%iger kochender Kalilauge ausgezogen. Aus dem wässrigen Extrakt wurde mit Aceton, aus dem alkalischen mit Aceton-Methanol jeweils ein Niederschlag gewonnen, I und II. Der ungelöste pulverige Rückstand III gab mit Chlorzink-Jod die Cellulose-Reaktion. Das papierchromatographische Untersuchungsergebnis zeigt Tabelle III.

Tabelle III

Zuckeranhydrid pro aschehaltige Trockensubstanz (s. Text!)

		I	II	III
%	Galactan	2,3	1,7	-
	Glucan	2,7	2,2	26,5
	Xylan	86,9	72,2	58,6
	Summe	91,9	76,2	85,1

Durch die Behandlung mit Wasser und Lauge wurde also jedesmal Xylan entfernt. Der dennoch im Rückstand verbliebene erhebliche Xylosegehalt deutet jedoch darauf hin, daß außer Zellulose auch ein Xylan am Gerüstaufbau der Alge beteiligt ist.

In folgenden Arten wurde ein noch nicht identifizierter TTC-reduzierender Stoff gefunden: Hypnea musciformis, Gracilaria armata, Ceramium rubrum, Ceramium acanthonotum, Polysiphonia elongata, Laurencia obtusa, Porphyra umbilicalis und Kalymenia reniformis. Er wandert im Chromatogramm nur wenig langsamer als Galactose.

Zu seiner präparativen Abtrennung in der Säule standen leider keine genügenden Mengen der in Frage kommenden Algen zur Verfügung. Es wurde jedoch durch Elution, Säurebehandlung und erneute Chromatographie festgestellt, daß es sich um eine einheitliche Substanz und kein Disaccharid handelt.

Durch papierchromatographischen Vergleich wurden ausgeschlossen: Galacturon-, Glucuron-, Mannuron-, Guluron-, 4-Methylglucuronsäure, 5- und 2-Ketogluconsäure.

Die Reaktionen mit Ninhydrin (auf Aminogruppen), mit Orcin (auf Pentosen) und mit Naphthoresorcin (auf Ketosen) waren negativ. Mit Anilinphthalat (allgemeiner Zuckernachweis) wurde eine grünlich-gelbbraune Farbe erhalten.

Diese Farbreaktionen, sowie die chromatographischen Vergleiche zeigen, daß es sich bei der unbekannten Substanz um keine der üblichen Pentosen, Hexosen, Ketosen, Uron- bzw. Ketosäuren oder um einen Aminozucker handelt. Da sie bei der Chro-

matographie stärker als die am langsamsten wandernde Aldohexose, Galactose, festgehalten wird, liegt möglicherweise eine Aldoheptose vor.

Zur Prüfung auf die Anwesenheit von Ketosen wurde bei neun Hydrolysaten, Chondrus crispus, Gracilaria confervoides, Furcellaria fastigiata, Ceramium rubrum, Delesseria sanguinea, Polysiphonia nigrescens, Polysiphonia elongata, Dumontia incrassata und Agar die Seliwanoff-Probe gemacht. Sie verlief in allen Fällen positiv, obwohl chromatographisch keine Fructose nachweisbar war.

Da für den positiven Ausfall der Seliwanoffreaktion im allgemeinen das sich aus Ketohexosen und Säure besonders leicht bildende ω-Oxymethylfurfurol (im weiteren als OF bezeichnet) verantwortlich gemacht wird, war 1. auf dessen Anwesenheit in den Rotalgenhydrolysaten zu prüfen, 2. die Substanz, aus der sich OF im Falle der Rotalgenhydrolyse bildet, aufzufinden.

Der Nachweis von OF wurde papierchromatographisch mit einem nach einer Vorschrift von Haworth (44) aus Saccharose hergestellten Vergleichspräparat erbracht: Übereinstimmung der R_F-Werte (0,76), orangerote Färbung mit Naphthoresorcin/H_3PO_4 in der Kälte auf dem Chromatogramm. Außerdem wurde aus Agarhydrolysat OF in Substanz isoliert (s. Versuchsteil).

Bei dem unter Säureeinwirkung so leicht OF bildenden Zucker handelt es sich mit größter Wahrscheinlichkeit um 3,6-Anhydrogalactose (im weiteren als AG bezeichnet), deren Anwesenheit in Agar schon länger bekannt ist.

Aus der zuvor mit verd. Säure erhitzten Lösung eines von uns hergestellten AG-Präparates konnten wir OF isolieren. Die Zersetzung von AG unter den für die üblichen Polysaccharide optimalen Hydrolysenbedingungen schreitet so rasch fort, daß ihre papierchromatographische Charakterisierung und quantitative Erfassung so nicht möglich sind. (siehe folgender Abschnitt)

2.) Zur Bestimmung der Saccharide in Agar

Wir verwendeten zu unseren Versuchen ein Handelspräparat von Agar und stellten fest, daß dieses neben sehr wenig Glucan und Xylan ca. 30 % Galactan enthielt. Es wurden also 2/3 der eingewogenen Substanz nicht erfaßt.

Auch M. Lüdtke bestimmte mittels Oxydation zu Schleimsäure den Galactangehalt des Agar zu 30-35 % (20), wogegen englische Autoren - E.G.V. Percival und Mitarbeiter - aus der Menge methylierter Galactose, die sie von methyliertem Agar nach der Hydrolyse isolierten, auf einen Galactangehalt von ungefähr 55 % schlossen (54). Daneben isolierten letztere bei späteren Versuche Derivate der 3,6-Anhydro-l-Galactose(AG); (45)(48). Das von ihnen ermittelte Molverhältnis d-Galactose: AG betrug 15:2 bis 9:1. Damit hätten sie also ca. 60 % der Gesamtsubstanz erfaßt.

Unsere Versuche zur quantitativen Bestimmung der AG im Agar basieren auf der von uns gemachten Beobachtung, daß TTC-Base schon bei 20° durch - ad hoc hergestellte - AG reduziert wird, und zwar wesentlich schneller, als durch andere Aldosen. So betrug bei gleicher Entwicklungszeit (10-15 min.) der Reduktionswert von Galactose nur 5 % des Reduktionswertes von AG. Die Reduktionsgeschwindigkeiten anderer Aldosen unterscheiden sich bei 20° von Galactose nicht.

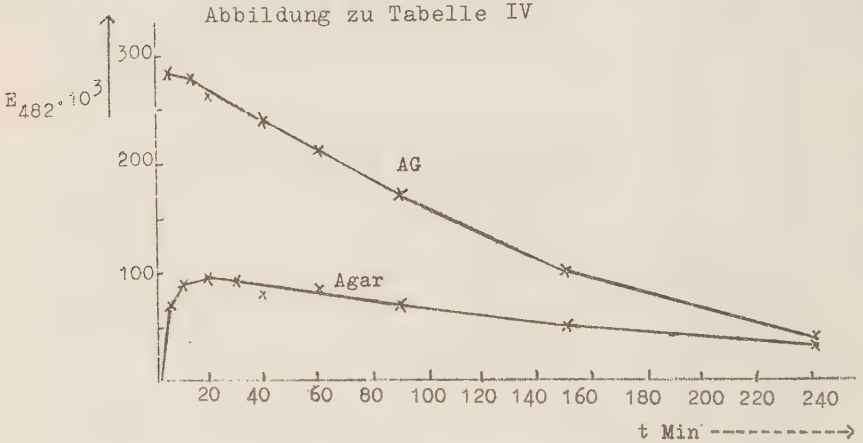
Wegen der in der Literatur angegebenen Zersetzlichkeit der AG in saurer Lösung (46) war es notwendig, die zur Erreichung maximalen Reduktionswertes erforderliche Hydrolysenzeit zu ermitteln.

Wie Tabelle IV und die dazu gehörige Abbildung zeigen, wird der maximale Reduktionswert bei der Hydrolyse mit 0,5 n H_2SO_4/100° bei Agar nach 20, bei AG-methylglycosid nach 5 Minuten erreicht. Bei länger andauernder Hydrolyse fällt der Reduktionswert ziemlich schnell und beträgt nach 240 min. für Agar 1/3 und für AG-methylglycosid 1/9 des Maximums. - Ferner ergibt sich aus diesem Versuch der Gehalt des Agar an AG zu ca. 33 %.

Tabelle IV

Hydrolysen-zeiten Min. bei 100°	AG $E_{482} \cdot 10^3$	Agar $E_{482} \cdot 10^3$
1		1
5	284	68
10		90
13	280	
20	263	93
30	253	91
40	239	78
60	211	79
90	172	71
150	97	49
240	33	31

Abbildung zu Tabelle IV



Erklärung zu Tabelle IV nebst Abbildung:

Hydrolyse von AG (3,6-Anhydro-methylgalactosid) 186,5 mg/40 ml 0,5n H_2SO_4 bei 100°.

Hydrolyse von Agar 187,3 mg/40 ml 0,5n H_2SO_4 bei 100°.

Formazanbildung aus TTC-Base bei 20°
Aufgetragen 10 mm^3/4 cm^2, Whatman Nr. 1-Papier
eluiert mit 10 ml Methanol-Eisessig
Der "Leerwert" $E_{482} \cdot 10^3$ = 6 ist abgezogen.

Um den AG-Gehalt des Agar genauer zu bestimmen, wurde die Vergleichseinwaage an AG der - aus obigem Versuch ungefähr ermittelten - AG-Menge im Agar angeglichen. Aus dieser Bestimmung ergab sich für Agar ein AG-anhydridgehalt von 45 %. Der Wert ist der Durchschnitt aus zwei Bestimmungen. Die Reaktion mit TTC wurde wegen der Unlöslichkeit von Formazan in den wässrigen Hydrolysenlösungen auf Papier ausgeführt (vgl. Erklärung zu Tab. IV). Von der Gesamtsubstanz des Agar sind damit ca. 75 % erfaßt worden.

Als Vergleichssubstanz mußte das kristalline Methylglycosid der AG verwendet werden, weil der freie Zucker ein nicht weiter zu reinigender Syrup ist (50).

Eine papierchromatographische Bestimmung der AG in Agar war nicht möglich, da bei dem Papierchromatogramm des Hydrolysates mit maximalem Reduktionswert der größte Teil reduzierenden Saccharids am Start blieb. Nur ein kleiner Teil wanderte mit einem R_F-Wert von 0,53. Dieser R_F-Wert kommt der AG zu, wie ein Vergleich mit der synthetisierten Substanz zeigte. Aus diesem papierchromatographischen Verhalten geht hervor, daß nach 20 Min. Hydrolysendauer die AG von Agar noch längst nicht vollständig abgespalten ist. Da jedoch die Reduktionswirkung ihr Maximum erreicht hat, müssen die wirksamen aldehydischen Gruppen bereits größtenteils frei vorliegen.

Die im Vergleich zu anderen Zuckern größere Reduktionsgeschwindigkeit der AG wird durch ihre frei vorliegende Aldehydgruppe erklärt (45). Sie gibt z.B. wie ein gewöhnlicher Aldehyd mit fuchsinschwefeliger Säure Rotfärbung.

Tabelle V

Rotalgen

Florideae

% Monosaccharid-Anhydrid pro aschefreie Trockensubstanz.

I) Gigartinales a) Gigartinaceae	a Gal	b Glu	c Man	d Fru	e X/Fu	f Xyl	g Fuc	h Rib	Summe a-h	Glü
1r Gigartina mamillosa	28,2	3,7	Sp.		-	-	-		31,9	22,6
2r G.avicularis	15,5	8,5	0,4		1,0	-			25,4	14,8
3r G.decipiens	23,0	10,1	-			0,6	0,3		34,0	16,4
4r Chondrus crispus	21,0	5,4	0,7	-	1,9			Sp.	29,0	20,2
b) Solieriaceae										
5r Eucheuma cottonii	13,0	7,8	0,4			0,5	0,9		22,6	30,0
6r E.serra	19,1	8,5	-	-		0,7	0,7		29,2	23,8
7r E. speciosum	18,4	8,6	-	-	0,4				27,4	22,8
8r E. Art I	16,5	9,0	1,3		2,1				28,9	43,0
9r E. Art II	13,2	7,5	0,8		1,2				22,7	31,2
c) Hypneaceae										
10r Hypnea musciformis	14,4	6,2	0,6		1,0				22,2	18,2
11r H. cervicornis	14,3	9,5	-	-	2,2				26,0	24,6
d) Gracilariaceae										
12r Gracilaria confervoides	8,6	9,2	0,9	-	2,2			Sp.	20,9	18,5
13r G. armata	6,5	4,5	1,0			12,4	-		24,4	6,6
e) Rhodophyllidaceae										
14r Rhodophyllis bifida	13,6	5,9	0,7		0,6				20,8	27,6
f) Furcellariaceae										
15r Furcellaria fastigiata	9,9	6,4	1,4	-	10,2				27,9	20,6

	a Gal	b Glu	c Man	d Fru	e X/Fu	f Xyl	g Fuc	h Rib	Summe a-h	Glü
II) Ceramiales										
a) Ceramiaceae										
16r Ceramium rubrum (a)	16,7	11,9	3,8	-	4,0			Sp.	36,4	36,8
16r " (b)	16,5	7,0	1,2		4,3			Sp.	29,0	7,0
17r C. acanthonotum	20,0	10,7	1,4			5,7	5,7		43,5	5,3
18r Griffithsia plumosa	5,4	4,4	0,2		0,8				10,8	2,.
19r Grif. opuntioides	10,6	8,7	0,7		5,3				25,3	30,3
b) Delesseriaceae										
20r Delesseria sanguinea	6,3	4,1	1,6	-	2,1				14,1	3?,7
c) Nitophylleae										
21r Nitophyllum punctatum	17,2	9,3	10,3		4,8				41,6	20,0
d) Rhodomelaceae										
da) Polysiphonieae										
22r Polysiphonia nigrescens	3,5	7,5	2,9	-	3,6				17,5	30,
23r P. elongata	8,5	10,5	6,7	-		1,2	0,7		27,6	29,
db) Laurenciaceae										
24r Laurencia obtusa	8,8	8,2	1,5		7,4				25,9	11,
III) Rhodymeniales										
a) Rhodymeniaceae										
25r Rhodymenia palmata	2,8	7,4	Sp.			58,5	-		68,7	1,
b) Champiaceae										
26r Lomentaria glabillosa	18,3	4,5	Sp.		Sp.				22,8	21,
27r L. compressa	16,9	4,2	0,8		1,8				23,7	23.

	a Gal	b Glu	c Man	d Fru	e X/Fu	f Xyl	g Fuc	h Rib	Summe a-h	Glü
28r L.aciculari	10,3	3,0	-	-	-	-	-		13,3	43,3
IV. Gelidiales										
a) Gelidiaceae										
29r Gelidium corneum	15,6	18,6	-	-		0,5	0,2		34,9	20,8
30r G.capillaceum	56,5	14,1	-	-	-	-	-		70,6	65,2
31r Pterocladia lucida	20,6	12,1	-	-	2,0				34,7	8,3
32r P. capillacea .	18,2	14,5	-	-	2,0				34,7	4,1
V. Cryptonemiales										
a) Corallinaceae										
33r Corallina rubens	+	+	-	-	-	-	-			75,0
b) Dumontiaceae										
34r Dumontia incrassata	13,1	3,3	1,3	-	1,0			Sp.	18,7	38,0
VI. Nemalionales										
a) Helminthocladiaceae										
35r Nemalion helminthoides	2,7	1,7	25,7			23,0	-		53,1	15,6
B. Bangioideae										
Bangiaceae										
36r Bangia atropurpurea	++	+	+++		+					
37r Porphyra umbilicales	18,0	1,4	2,8			0,9	2,1		25,2	19,4
38r Kalymenia reniformis	18,1	9,9	0,4			1,3	1,1		30,8	3,8
39r Agar	29,2	1,1	-	-		0,7	-	44,6	75,6	2,7

Anhydrogalactose

Zeichenerklärung: Siehe Tabelle I, außerdem X/Fu = Xylose + Fucose
Fuc = Fucose

3.) Die Bestimmung der Hydrolysenrückstände einiger Rotalgen

Um den bei der Hydrolyse der Rotalgen nicht aufgeschlossenen unlöslichen Anteil zu erfassen, wurden die Hydrolysenrückstände von Eucheuma cotonii, E. serra, E. speciosum, Delesseria sanguinea, Polysiphonia nigrescens, P. elongata von den sauren Hydrolysaten abgetrennt, mit Wasser bis zur Neutralreaktion, dann zweimal mit Aceton und einmal mit Äther gewaschen.

Der lipoidlösliche Anteil wurde durch Eindampfen und Trocknen der Aceton-Ätherauszüge bestimmt.

In den lipoidfreien Anteilen wurden der Glührückstand, sowie durch erneute saure Hydrolyse und Chromatographie der Monosaccaridgehalt bestimmt. Das Ergebnis zeigt folgende Tabelle.

Tabelle VI

NR = Nicht hydrolysierter Rest.
Alle Angaben sind auf aschefreie Substanzen berechnet.

	NR der Alge + Lipoide	% Sacch. anhydrid im NR	% nicht hydrolys. Saccharidanhydr. pro Alge	% kohlenhydrat freier NR der Alge + Lipoide	% Lipoide im NR	% Glü im NR
5r	8,6	15,6	1,3	7,3	18,o	10,2
6r	9,3	8,4	o,8	8,5	8,8	2,1
7r	4,2	20,7	0,9	3,3	11,7	4,2
20r	19,1	4,6	0,9	18,2	8,7	21,0
22r	24,8	5,6	1,4	23,4	21,6	29,9
23r	7,1	4,6	o,3	6,8	31,3	8,1

Wie die Tabelle zeigt, ist der Anteil der durch die Hydrolyse nicht aufgeschlossenen Kohlenhydrate gering und liegt durchschnittlich bei 1 %.

Die Menge der kohlenhydratfreien organischen Hydrolysenrückstände bei den untersuchten Exemplaren variiert von 3,3 bis 23,4 %. Sie dürfte, abgesehen von den Lipoiden aus bei der Hydrolyse gebildeten Zersetzungsprodukten (Huminstoffen etc.) bestehen.

Bei 4 weiteren Algen Gigartina mamillosa, Laurencia obtusa, Rhodymenia palmata, Lomentaria glabillosa wurden die Extinktionen der auf dem Chromatogramm nicht oder nur wenig gewanderten TTC-positiven Substanzflecken - Oligosaccharide, Uronsäuren usw. - bestimmt und mit Glucose verglichen. Die Werte waren für Gigartina mamillosa 4 %, Laurencia obtusa 12,5 %, Rhodymenia palmata 0,7 %, Lomentaria glabillosa 5,8 %.

- - - - - - - - - - -

Anmerkung zu Tabelle V. Die Bestimmung und Zusendung der Exemplare der Algen 13r, 14r, 16ra, 18r, 19r, 21r, 24r, 26r, 27r, 28r, 33r, verdanken wir Herrn Professor Dr. O Volk, Botan. Institut der Universität Würzburg. Sie wurden im Golf von Neapel im April 1954 gesammelt.

Die Algen 2r, 3r, 5r bis 11r, 29r bis 32r, 38r wurden uns freundlicherweise von Herrn Friedrich August Thiem, Drogen und Chemikalien-Import und Export, Hamburg, Bleichenbrüche 10 kostenlos zur Verfügung gestellt. 29r, 30r, 38r stammen von der Atlantikküste Südeuropas; 5r, 6r von den Küstengebieten des Indischen Ozeans; 7r von der Küste Westaustraliens; 8r, 9r von den indonesischen Inselgebieten; 2r, 10r, 11r von der Westküste Afrikas; 3r, 31r, 32r von der Küste Neuseelands.

Die Algen 4r, 12r, 16rb, 22r, 23r, 34r, 37r wurden von Herrn Sahling, Biologische Anstalt Helgoland, List auf Sylt, im November 1955 gesammelt und bestimmt.

Die Algen 1r, 17r, 25r, 35r stammen von den Küsten Norwegens. Ihre Bestimmung verdanken wir Herrn Professor Dr. H. Printz, Institutt for Tang-og Tareforskening, Blindern, Oslo. Sie wurden im September 1954 gesammelt.

Die Sammlung und Bestimmung der Algen 20r, 15r verdanken wir Herrn Professor Dr. C. Hoffmann, Institut für Meereskunde der Universität Kiel. Sie wurden im November 1955 in der Ostsee bei Kiel gesammelt.

Die Süßwasserrhodophycee 36r wurde von Herrn Studienrat Dr. Bock in der Umgebung Würzburgs gesammelt und von ihm bestimmt.

Das Agarpräparat, 39r, bezogen wir von der Firma Vogel & Co. Heidingsfeld bei Würzburg.

III. Diskussion der Ergebnisse

1. Grünalgen

Die bisherigen Arbeiten über Algenkohlenhydrate befassen sich, wie eingangs erwähnt, hauptsächlich mit den durch Wasser, schwache Säuren oder Laugen extrahierbaren Schleimen und Gelen der Braun- und Rotalgen. Während die aus ersteren gewonnenen Alginsäuren Polymere von Mannuron- und, wie F.G. Fischer und H. Dörfel neuerdings feststellten (6), auch Guluronsäuren darstellen, bestehen die aus letzteren hergestellten Produkte (Agar, Carragen etc.) aus einem Galactan mit variierendem Schwefelsäuregehalt (10). Diese beiden Algenklassen unterscheiden sich also durch jeweils für sie spezifische saure Zuckerkomponenten. Im Gegensatz dazu treten bei Grünalgen saure Saccharide zurück. Außerdem konnte von uns festgestellt werden, daß sich einige ihrer Ordnungen und Unterordnungen in der Kohlenhydratzusammensetzung unterscheiden.

Im folgenden seien die Grünalgen in der Reihenfolge der Tabelle I behandelt.

A. Die vier untersuchten Chlorococcalen zeigen in ihrer Zuckerzusammensetzung keine nennenswerten Unterschiede. Nach zwei von F.E. Fritsch zitierten älteren Arbeiten sollen die Schleimeinschlüsse dieser Algen besonders gut untersucht sein und aus "Pectose" bestehen (13, 14); eine chemische Kennzeichnung dieser Substanz wird jedoch nicht gegeben.

Nach einer neueren Arbeit japanischer Autoren (41) sollen in Chlorella Glucose (+++), Xylose (++), Galactose (++), Ribose und Ribulose (+), eine Triose (+), Saccharose (+), Gluconsäure (+), Ketogluconsäure (+), Galacturonsäure (+), Glucuronsäure (+) und "Fructose bzw. eine Ketoheptose"(+++) vertreten sein. Es werden Angaben über die Wasserlöslichkeit gemacht, wonach mit Ausnahme von Rohrzucker ein großer Teil sämtlicher angeführter Zuckerarten ungelöst zurückbleibt.

Nach unseren Untersuchungen fehlt eine Ketose in allen vier Chlorococcalen. Dagegen treten bei ihnen ein Glucan -

Zellulose und Stärke - mit 45 - 85, ein Mannan mit 12-19 und ein Gallactan mit 3-28 % pro Gesamtkohlenhydrat (im weiteren Gskh) besonders hervor. In Spuren wurden Arabinose, Xylose, Rhamnose und Ribose gefunden.

In der auf wasserlösliche Saccharide geprüften Scenedesmusart blieb nur ein Teil des Mannans und die Zellulose zurück, alle übrigen Kohlenhydrate gingen in Lösung.

Aus einer 1953 von H.W. Milner veröffentlichten Arbeit ist jedoch zu entnehmen, daß die chemische Zusammensetzung der Einzelleralgen ganz besonders stark von den Wachstumsbedingungen abhängig ist. Es heißt dort, daß keine zwei Kulturen die gleiche Elementaranalyse aufwiesen. Auch variierten bei Chlorella pyrenoidosa Exemplaren, die in verschiedenen Kulturen gezüchtet wurden, die Werte für Proteine von 7 bis 88, Kohlenhydrate von 6 bis 38 und Lipoide von 5 bis 87 % (43). Bei den von uns untersuchten Chlorococcalen , deren Kulturbedingungen wir nicht kennen, lag die Zuckersumme zwischen 11 und 33 %.

B. Über den bemerkenswert hohen Gehalt der Ulvaceen an Rhamnose wurde schon verschiedentlich berichtet (10). Nach J. König (18) beträgt der Gehalt in Enteromorpha compressa an Pentosan 7, an Methylpentosan 16 %. Japanische Autoren haben aus Ulva petrusa und Enteromorpha compressa ein Polymeres aus Rhamnose und Uronsäuren isoliert (15-17, 21-23).

H. Kylin hat 1946 in beiden Arten Zellulose nachgewiesen, ebenso Methylpentose und ein Galactansulfat; die Anwesenheit einer Pentose wird jedoch von ihm bestritten (23).

Wir konnten ein Rhamnan, Xylan und Zellulose in den Ulvaceen nachweisen. Da wie wir fanden, bei der Alkalibehandlung von Ulva ein Rückstand mit zerstörter Struktur hinterbleibt, sobald die Xylose völlig entfernt wird, wäre es möglich, daß neben Zellulose auch ein Xylan zur Gerüstbildung dient. (52) Der relativ hohe Gehalt an Rhamnan und Xylan muß als charakteristisch für die Ulvaceen gelten.

C. In der älteren Literatur wird für Cladophoraarten das Vorkommen eines Xylans, sowie die Anwesenheit von Chitin ange-

geben (24, 25). Nach A.G. Pollard war der erste entdeckte Zucker in Clad. wrightiana Fructose (zit. in 10). Zellulose, von uns mit Chlorzink-Jod nachgewiesen, ist von anderen Autoren mit Hilfe der Röntgenstrukturanalyse der Skelettsubstanz näher untersucht worden (27). H. Kylin hat die von ihm untersuchten "Pectinstoffe" in Cladophora rupestris als Kalzium- und Magnesiumsalze von "Ätherschwefelsäuren" beschrieben (28).

Bei den Cladophoraarten C. rupestris, C. utriculosa und Chaetomorpha linum wurde von uns kein Glucosamin nach der Hydrolyse nachgewiesen, die Anwesenheit von Chitin also ausgeschlossen. Außerdem ist das völlige Fehlen von Mannose auffallend, da dieser Zucker in allen anderen Chlorophyceen nachgewiesen werden konnte; ebenso fehlt Fructose.

Hervorzuheben ist dagegen der bemerkenswert hohe - zwischen 15 und 22 % der Gskh liegende - Arabangehalt, der bei den übrigen Grünalgen sich auf Spurenmengen beschränkt (Ausnahme Spirogyra 8 %/Gskh) oder gänzlich fehlt. Arabinose ist somit augenscheinlich ein typisches Kohlenhydrat dieser Algenordnung.

D. Die Literaturangaben über diese Ordnung sind spärlich. Nach van Wisselingh et al. ist die reife Zellwand aus zwei wohldifferenzierten Schichten zusammengesetzt; die lockere äußere bestehe aus strukturlos aufgebauter Zellulose (9 I, S. 339, 29-31). Auch E. Nikolai hat festgestellt, daß das Röntgendiagramm der Skelettsubstanz von Spirogyra erhebliche Abweichungen gegenüber Zellulose aufweist (27). Wurdach wies "Pectin" durch Anfärben nach (25). Sonstige Literaturangaben über Zuckerstoffe in Conjugalen konnten nicht gefunden werden.

Von den nachgewiesenen Zuckern tritt neben Glucose (32%), Galactose (29%) und Xylose (22 %/Gskh) hervor; außerdem war Spirogyra mit Ausnahme der Ulvaceen die einzige Algenart mit etwas höherem Rhamnangehalt (10% /Gskh).

E. Die negative Reaktion auf Zellulose mit Jodreagenzien bei Caulerpaceen und anderen Siphoneen ist verschiedentlich bemerkt und hervorgehoben worden. Correns wies schon 1894 auf die Abwesenheit von Zellulose in Caulerpa hin (34). Nach

F. Pannini (32) und R. Mirande (33) besteht die Membran aus "Callose", welche mit "Pectin" und Spuren von Zellulose imprägniert ist. Den gleichen Befund hat Mirande auch bei den Codiaceen erhalten (35); er betont, daß der Ersatz von Zellulose durch "Callose" charakteristisch für die Ordnung der Siphonales ist und nur Vaucheria eine Ausnahme bildet. "Callose" wurde durch Anfärben mit basischen Farbstoffen (Tetraazofarbstoffen der Benzidinreihe) nachgewiesen.

Bei der von uns durch Alkali- und Säurebehandlung dargestellten Gerüstsubstanz von Caulerpa war die äußere Gestalt erhalten geblieben. Auf Grund der papierchromatographischen Untersuchung dürfte feststehen, daß es sich dabei um ein Xylan handelt. Wie sich dieses Ergebnis mit der Feststellung von Mirande und Pannini, nach deren Anfärbemethoden Säuregruppen in den Molekülen der Gerüstsubstanz zu erwarten wären, in Einklang bringen läßt, bedarf noch der Klärung.

Dieses gilt gleichermaßen für die Codiaceen und die Dasycladacee Acetabularia. Auch bei diesen Algen blieb nach der Alkalibehandlung der äußere Aufbau des "Gerüsts" weitgehend unverändert. Wie bei Caulerpa besteht es nicht aus Zellulose, aber anders als bei dieser aus einem Mannan.

Es scheint demnach festzustehen, daß der von Mirande geprägte Begriff "Callose" nicht einer Substanz definierter chemischer Zusammensetzung zukommt, sondern Stoffe recht verschiedener Komponenten einschließt. Die alkalilösliche "Callose" verschiedener Pilze wurde als ein mit Phosphorsäure verestertes Glucan erkannt (61).

Die Unterordnungen der Siphoneen, die Caulerpaceen, Codiaceen und Dasycladaceen unterscheiden sich also durch ihre Gerüstbausteine sowohl unter sich selber wie auch von den übrigen Grünalgen; Vaucheria, deren Skelett aus Zellulose besteht, macht eine Ausnahme. Außerdem sei der hohe Fructangehalt (54 % /Gskn) in Acetabularia vermerkt, der einzigen Alge, in der dieser Zucker gefunden wurde. Sonst sind Fructane als Reservebestandteile der Compositenknollen und Gräser bekannt.

F. Einen Hinweis über den chemischen Aufbau der Zellwand von Charalen geben nur zwei ältere Arbeiten von Zacharias und

Correns (36, 37). Er heißt dort, die Zellwand bestehe aus einer oberflächlichen gelatinösen Schicht unbekannter Zusammensetzung und einer Hauptschicht aus Zellulose.

Nach dem papierchromatographischen Ergebnis stellt ein Glucan - also wohl Zellulose und Stärke - den überwiegenden Zuckeranteil. Auffallend ist das Fehlen von Galactose, die in allen anderen Grünalgen gefunden wurde.

G. Die Diatomeen dürften in ihrem Kohlenhydratbau einige interessante Besonderheiten aufweisen. Nach Mangin (38,39) sollen ihre Wände aus "Pectin" aufgebaut sein, welches durchgehend mit Kieselsäure imprägniert ist; Zellulose scheine zu fehlen. Als Hydrolysenprodukt wäre also nur Galacturonsäure zu erwarten. Bei den drei von uns untersuchten Arten stellt ein Xylan einen wesentlichen Anteil der vorhandenen Kohlenhydrate. Demgegenüber treten die anderen Zucker einschließlich Glucose, - mit Ausnahme von Galactose in einer Art -, zurück

Irgendwelche bindenden Schlußfolgerungen können jedoch erst nach Untersuchung einer größeren Anzahl in Reinkulturen gezüchteter Exemplare gezogen werden.

H. Über die Eigenart der Cyanophyceenpolysaccharide liegen verhältnismäßig viele Arbeiten vor, die jedoch deutlich die erheblichen noch bestehenden Unklarheiten offenbaren. Nach einer ganzen Anzahl von Forschern ist das erste evidente Produkt ihrer Photosynthese "Glycogen", welches hauptsächlich in "Glycoproteine" umgewandelt wird. Die Natur der aus zwei Schichten bestehenden Zellwände ist fast ganz unbekannt; es sollen darin von Zellulose oder Hemizellulosen begleitete "Pectine" vorkommen. Aus Nostoc ist von G. Klein Pentosan isoliert worden. Zu erwähnen ist noch die Vermutung Lemaires über das Vorkommen einer sauren - "Pectinsäuren" - mit einer organischen Base kombinierten Substanz, der sog. "Schizophycose". (Literaturangeben s. Fritsch 9 b S. 787).

Nach unseren papierchromatographischen Feststellungen sind in Oscillatoriacea hauptsächlich Glucane, eine geringe Menge an Ribose, Rhamnan und Spuren von Xylan bzw. deren Kombinationen vertreten. Galactose fehlt hier.

2. Rotalgen

Die Rhodophyceen zeigen eine bedeutend einförmigere Saccharidzusammensetzung als die Chlorophyceen. Eine Besprechung der einzelnen Ordnungen erübrigt sich daher.

In den meisten der von uns untersuchten Arten war Galactose der vorherrschende Zucker. Sie liegt vornehmlich als Bestandteil von Galactanen und Galactanschwefelsäureestern vor (10). Außerdem ist im Agar, - aus Gelidiumarten -, wie die Untersuchungen von Jones und Peat (45) und Percival (46, 47, 48, 54) zeigen, 3,6-Anhydro-l-galactose im Galactanmolekül gebunden. Nach Percival gibt dieser Zucker Ketosereaktion (46) Die trotz Fehlens einer Ketose bei den von uns geprüften Rotalgen erhaltene Seliwanoffreaktion ist daher sehr wahrscheinlich auf Anhydrogalactose (AG) zurückzuführen. Wir konnten außerdem in mehreren Hydrolysaten das für die Reaktion verantwortliche ω-Oxymethylfurfurol, sowie dessen Bildung aus AG nachweisen. Es dürfte daher ein Polysaccharid mit AG im Verband eines teilweise mit Schwefelsäure veresterten Galactans kennzeichnend für die meisten Rotalgen sein.

Der Gehalt der AG in Agar wurde zu 45 % bestimmt. Da jedoch bei Säureeinwirkung auf Agar einer relaktiv langsamen hydrolytischen Abspaltung der AG eine recht schnelle Zerstörung folgt, dürfte der wahre Wert noch über 45 % liegen.

AG, von den genannten englischen Autoren nur als Acetyl- und Methylderivat aus Agar isoliert, wurde von uns erstmals durch papierchromatographischen Vergleich als freier Zucker im Hydrolysat von Agar aufgefunden. Es steht somit fest, daß er nicht bei der Methylierung oder Acetylierung von Agar gebildet wird. Ebenso unwahrscheinlich ist seine Entstehung während der Hydrolyse durch intramolekulare Schwefelsäureabspaltung aus Galactansulfat; wie Percival feststellte, sind selbst aus sehr schwefelarmen Agarpräparaten größere Mengen von AG-Derivaten isolierbar (47).

Ein weiteres galactosehaltiges Produkt in Rotalgen ist die von H. Kylin 1915 zuerst in Rhodymenia palmata (bis zu 15 % (60)) entdeckte "Floridoside" (56). Sie wurde später in

weiteren 19 Arten gefunden und ihr Bau als der eines Glycerin-2(α-D-galactosids) aufgeklärt (58).

Vergleicht man unsere Analysen mit denen von A.G. Ross, so wird man in qualitativer Hinsicht im allgemeinen Übereinstimmung finden. Auffallend ist jedoch, daß jener in einigen Rotalgen keine, in vielen nur Spuren von Glucose gefunden hat, während wir in allen Arten nicht unbeträchtlichen Mengen dieses Zuckers feststellten. Die Glucose kann aus Floridastärke und Zellulose stammen (10, 9b, 55). Floridastärke unterscheidet sich von normalen Stärken und Glycogenen durch die gleichzeitige Anwesenheit von 1,3- und 1,4-Bindungen (57). Histologisch wurde sie in verschiedenen Rotalgen durch ihre tiefviolette bis braune Färbung mit Jod nachgewiesen (9 b S. 409).

Wie W. Black vermutet, wird die meiste Glucose bei der Hydrolyse von Rhodymenia palmata aus Floridastärke gebildet (10). Wir konnten jedoch weder bei den mit Wasser oder Lauge extrahierten Bestandteilen dieser Alge, noch beim Rückstand mit Jod alleine Violettfärbung erzielen. Diese trat vielmehr erst bei der Behandlung des Rückstandes mit Zinkchlorid-Jod in Erscheinung. Die Extraktivstoffe wurden auch hiermit nicht angefärbt. Es dürfte sich daher bei dem zu 26 % im Rückstand enthaltenen Glucan um Zellulose handeln. Der Hauptzucker in Rhodymenia palmata ist Xylose. Der gleiche Zucker wurde auch als überwiegender Bestandteil in Rhodochorton floridulum durch A.G. Ross festgestellt (42). Eine hohe Xylosemenge wurde von uns außerdem in Gracilaria armata und Nemalion helminthoides gefunden.

Abschließend sei bemerkt, daß die Saccharidzusammensetzung von Rotalgen der gleichen Ordnung sehr unterschiedlich sein kann. So ist der Gehalt an Xylan in Gracilaria armata mit 12 % sechs mal so hoch wie in G. confervoides mit nur 2 %. Von den vier untersuchten Gelidialen enthielten drei bedeutend mehr Galactose, als Glucose. Bei einer Gelidiumart war dagegen das Verhältnis umgekehrt. Weitere Beispiele sind aus der Tabelle zu ersehen. Anders als bei den Grünalgen sind demnach deutliche Unterschiede in der Saccharidzusammensetzung zwischen den Ordnungen der Rotalgen nicht zu erkennen.

IV. Zusammenfassung

Die ausgeführten papierchromatographischen Analysen geben erstmalig einen zusammenhängenden Überblick über die qualitative und q u a n t i t a t i v e Zusammensetzung an einfachen Zuckern von 17 Grün- und 38 Rotalgen nach der Hydrolyse.

Bei Grünalgen gefundene Zucker waren Glucose, Galactose, Xylose, Mannose, Arabinose, Rhamnose, Ribose und Fructose. Es fiel auf, daß innerhalb einer Ordnung oder Unterordnung die qualitative und quantitative Zuckerzusammensetzung nahezu gleich ist, während zwischen den Ordnungen recht erhebliche Unterschiede bestehen können.

So enthielten die zwei Ulvaceen Ulva lactuca und Enteromorpha compressa neben Glucan aus Zellulose und Stärke auffallend viel Rhamnan und Xylan .

Bei Algen aus drei Unterordnungen der Siphoneen konnte keine Zellulose nachgewiesen werden. Der geringe Prozentsatz an Glucose stammt demnach aus Stärke. - In Caulerpe prolifera war die Xylankonzentration besonders hoch. Xylose war auch das einzige reduzierende Saccharid, welches zu 58 % in der "Gerüstsubstanz"dieser Alge gefunden wurde. Drei Codiaceen, Codium elongatum, C. tomentosum und C. Bursa enthielten vorwiegend Mannane. Im Hydrolysat des "Gerüstes" von C.elongatum war Mannose der einzige nachweisbare Zucker. Die Dasycladacee Acetabularia mediterranea hat gleichfalls ein Mannangerüst. Sie war die einzige Alge, bei der Fructose gefunden wurde und zwar in erheblicher Konzentration. Die Hauptmenge dieses Zuckers ist in den Schirmchen vorhanden. Demnach ist ein Fructan Assimilationsprodukt und Reservestoff, ein Mannan der Gerüstbaustoff von Acetabularia. Nur bei einer Siphonee, Vaucheria,bestand das "Gerüst" aus Zellulose.

Die drei untersuchten Cladophoraarten, Chaetomorpha linum; Cladophora repestris und C. utriculosa enthielten u.a. neben der vorwiegend aus Zellulose gebildeten Glucose auffallend viel Arabinose. In anderen Grünalgen wurde Arabinose zwar auch, aber meist nur in Spuren ($< 0{,}5$ %) gefunden. Von allen Grün-

algen enthielten nur die Cladophoralen kein Mannan.

Die Chlorococcales enthielten vor allem Glucose, Mannose und Galactose.- Der Gesamtgehalt an Saccharidanhydrid, berechnet auf glührückstandsfreie trockene Algensubstanzen lag zwischen 10 und 84 %. Am niedrigsten war er bei den Einzelleralgen.

In Rotalgen vorhandene Zucker sind Galactose, Glucose, Xylose, Mannose, Fucose und Ribose. Mit großer Wahrscheinlichkeit kommt hierzu außerdem 3,6-Anhydrogalactose.

Bei 80 % der untersuchten Algen überwog der Galactangehalt. Die bei den Grünalgen recht häufig anzutreffenden Zucker Arabinose und Rhamnose fehlten in Rotalgen; auch Fructose wurde nicht in ihnen gefunden. Für die trotz Fehlens einer Ketose erhaltene Seliwanoffreaktion, wird Anhydrogalactose verantwortlich gemacht. Das bei der Hydrolyse von Anhydromethylgalactosid, Rotalgen und Agar sich bildende Oxymethylfurfurol, welches diese Reaktion verursacht, konnte einwandfrei nachgewiesen werden. - Demnach dürften teilweise mit Schwefelsäure veresterte, anhydrogalactosehaltige Galactane - meist in höherer Konzentration vorkommend - kennzeichnende Polysaccharide der meisten Rotalgen sein.

Im Hydrolysat von Agar wurden Anhydrogalactose, Galactose, Glucose und Xylose durch papierchromatographischen Vergleich gekennzeichnet. Die quantitative Bestimmung ergab 45 % Anhydrogalactose und 30% Galactose neben sehr wenig Glucose und Xylose (berechnet auf Anhydrid).

Bei einigen Rotalgen wurde der Galactangehalt durch andere Zucker übertroffen. Bemerkenswert ist vor allem die hohe Xylankonzentration in Rhodymenia palmata, Gracilaria armata und Nemalion helminthoides. Einen hohen Mannangehalt zeigte ebenfalls Nemalion helminthoides, daneben Nitophyllum punctatum und Bangia atropupurea. Diese Algen gehören verschiedenen Ordnungen an; es ist also keinn kennzeichnender Unterschied in der Saccharidzusammensetzung der Ordnungen der Rhodophyceen festzustellen.

Als Gerüstbestandteile von Rhodymenia palmata wurden wasser- und laugenunlösliche Xylane sowie Zellulose festgestellt. Die herausgelösten Glucane zeigten keine Stärkereaktion.

C. Experimenteller Teil

1. Bestimmung des Glührückstandes.

Wegen des bei Meeresalgen relativ hohen Gehaltes an Salzen, die bei der Veraschung zum Teil flüchtig sein können, wurde auf die Festlegung und Einhaltung bestimmter Bedingungen geachtet.

Zunächst wurde das lufttrockene Pflanzenmaterial einige Stunden im Trockenschrank bei 65° gehalten und dann zur Erreichung weitgehender Homogenität in einer eisernen Reibschale fein pulverisiert.

Zur Ermittlung der Trockengewichte wurden die gepulverten Algen bei 65°, 0,1 Torr über P_2O_5 weitergetrocknet. Die Gewichtsverluste sind bei der Ausrechnung der Prozentsätze der Tabellen berücksichtigt.

Die Veraschung wurde bei 570° in einem Muffelofen der Fa. Heraeus/Hanau a.M. in zugedeckten Porzellantiegeln vorgenommen. Bei dieser Temperatur ist nach 15-20 Stdn. alles organische Material verbrannt, ohne daß Verluste infolge Verdampfung von anorganischem Material auftreten. - Die in einer norwegischen Publikation (1) zur Veraschung empfohlene Temperatur von 430° erwies sich bei unseren Versuchen als zu niedrig; es wurden auch nach zwei Tagen noch erhebliche Reste an unverbranntem Kohlenstoff gefunden. Wenn zur Bestimmung des Glührückstandes einfach im Porzellantiegel auf der Flamme eines Bunsenbrenners oder in einem elektrischen Glühofen bei heller Rotglut verascht wurde, so sublimierte bei der Grünalge Codium elongatum und bei einigen Rotalgen ein Teil des Glührückstandes fort. - Bei sämtlichen Veraschungen wurde das arithmetische Mittel aus zwei Bestimmungen genommen. Die maximale Streuung betrug 6 % der gefundenen Werte.

2. Ausführung der Hydrolyse.

Zur Hydrolyse wurde das in der oben beschriebenen Weise hergestellte gleichmäßig feine Pflanzenpulver nach einer von H. Nebel (2) ausgearbeitete Methode behandelt: Vorhydrolyse

von etwa 500 mg Algenpulver, 15 - 24 Stdn. bei 20° mit 2 ccm 75%iger Schwefelsäure; Verdünnen und Abstumpfen mit $CaCO_3$ auf 0,5n H_2SO_4 und Nachhydrolyse 6 Stdn. bei 100° im zugeschmolzenen Reagensglas. Nach den Versuchen von Nebel können dabei maximal ca. 5 % der Hexosen und 10-15 % der Pentosen zerstört werden. Für den wahren Zuckergehalt kommen also Werte in Frage, die diesem Prozentsatz entsprechend höher liegen als in den Tabellen angegeben.

In einigen Fällen, z.B. bei den Gerüstsubstanzen von Caulerpa prolifera und Acetabularia mediterranea, konnte die Vorhydrolyse mit 75%iger Schwefelsäure auf 1/2 bis 1 Stde verkürzt werden, da nach dieser Zeit alles in Lösung gegangen war und auch beim Verdünnen weder ein Niederschlag noch eine Trübung beobachtet wurden.

3. Herstellung der Gerüstsubstanzen.

Als Gerüstsubstanzen wurden diejenigen Pflanzenteile definiert, welche nach 1-2 stündigem Kochen in 1%iger NaOH noch nicht in Lösung gegangen waren. - Herstellung in Anlehnung an eine Vorschrift zur Gewinnung reiner Zellulose (3). - Im einzelnen wurde folgendermaßen verfahren:

1. Zur Entsalzung wurden die nicht zerkleinerten Pflanzenteile in der Kälte 30 Min. in 2n HCl digeriert und danach mit viel destilliertem Wasser ausgewaschen und abgepreßt.
2. Hierauf wurden die Lipoide aus dem gut aufgequollenen Material weitgehendst durch mehrstündiges Kochen mit einem Gemisch aus Benzol/Äthanol/Aceton/Wasser (80:100:100:40; v/v) entfernt.
3. Die so vorbereitete Pflanze wurde 1-2 Stdn. in 1%iger NaOH unter Zugabe von einigen Tropfen Perhydrol in den letzten 10 Minuten gekocht. Falls die Lauge sich stark dunkel färbte, wurde sie durch neue ersetzt.
4. Der nunmehr in den meisten Fällen rein weiße bis schwach grünlich-gelbe Rückstand wurde auf einem weitporigen Glasfiltertigel abgesaugt, mit dest. Wasser, mit verd. HCl, dann wieder mit dest. Wasser bis zur Neutralreaktion und anschließend mit Aceton gewaschen und bei 65°/1 Torr über P_2O_5 getrocknet.

Dieses Verfahren lieferte bei den Algen Caulerpa prolifera, Acetabularia mediterranea und Codium elongatum ein aus jeweils nur einer Zuckerkomponente bestehendes Skelett , bei dem die äußere Struktur erhalten geblieben war. Bei Ulva lactuca genügte die 1%ige NaOH nicht, um das neben der Zellulose vorhandene Xylan völlig zu entfernen . Dieses wurde vielmehr erst durch zweistündiges Kochen mit 4%iger NaOH erreicht, wobei allerdings als "Gerüst" ein pulvriger Rückstand hinterblieb. Das gleiche gilt für Rhodymenia palmata; bei dieser Alge wurde im einzelnen folgendermaßen verfahren: 20 g des lufttrockenen Materials wurden nach der Behandlung nach 1. und 2. 1 Std. mit Wasser und dann erst 2 Stdn. mit 4%iger KOH gekocht. Aus dem wässrigen Extrakt wurden durch Zugabe von Aceton 3,4 g, aus dem alkalischen durch Aceton-Methanol 0,7 g eines jeweils farblosen, pulvrigen Niederschlages gewonnen. Die 1,2 g betragende Menge des Rückstandes lag ebenfalls als farbloses Pulver vor. Über die Ergebnisse der Zuckeranalyse wurde im allgemeinen Teil berichtet.

4. Papierchromatographische Bestimmung der Zucker.

Die qualitative und quantitative Bestimmung der nach der Hydrolyse vorhandenen Zucker wurde nach den Arbeiten von F.G. Fischer und H. Dörfel (4,6) und G. Dietrich (5) ausgeführt.

1. Papierchromatographische Trennung der Zucker mit einem Gemisch aus Pyridin/Essigester/Wasser (11:40:6; v/v).
2. Behandlung des getrockneten Chromatogramms mit einer 2%igen methanolischen Triphenyltetrazoliumhydroxyd-Lösung.
3. Flächengleiches Ausschneiden der nach Entwicklung gebildeten Formazanflecken (5).
4. Eluieren mit Methanol-Eisessig.
5. Photometrieren dieser Lösungen mit dem Beckman-Photometer bei 482 mμ.

Die Grundfärbung des Papiers (Leerwert) wurde meist nicht graphisch (7), sondern durch Messung ermittelt.

Nach einer Privatmitteilung von H. Dörfel wird durch gemeinsames Eluieren von zwei flächengleich ausgeschnittenen Formazanflecken in e i n e m bestimmten Volumen (5-15 ml) Methanol-Eisessig gleiche Genauigkeit erzielt wie durch getrenntes Eluieren. Es können so auf einem Filterbogen von 52 cm Breite und Auftragen der Analysen- und Vergleichslösung auf einer Startlinie von 2 cm Länge (Zwischenräume ebenfalls je 2 cm) zwei Analysen gleichzeitig ausgeführt werden.

Die Trennung der Fructose von Mannose und den anderen Zuckern (mit Ausnahme von Sorbose) und ihre quantitative Bestimmung gelang mit dem von G. Dietrich (5) angegebenen Gemisch Benzol/Pyridin/Essigester/Wasser (100:100:150:15;v/v) Laufzeit ca. 40 Stdn. Die Anwesenheit von Fructose (und evtl. vorhandener anderer Ketosen) macht sich durch ihre im Vergleich zu den Aldosen schnellere Reduktionswirkung - Bildung von Formazan bereits bei 15-20° - bemerkbar.

Fucose und Xylose, welche bei den oben angegebenen Gemischen gleiche Wanderungsgeschwindigkeiten besitzen, können zwar mit einem von Dietrich (5) angegebenen Gemisch Butanol/Eisessig/Wasser (4:1:1; v/v) Laufzeit 35-40 Stdn. voneinander getrennt werden; es fällt dann jedoch Fucose mit Ribose zusammen. Sind also Xylose, Fucose und Ribose gleichzeitig in der zu analysierenden Lösung vorhanden, so kann deren Gehalt an Xylose und Ribose direkt, an Fucose jedoch nur aus der Differenz der gemessenen Extinktionen festgestellt werden.

Mit Hilfe der angegebenen Gemische wurden folgende Zucker voneinander getrennt und - mit Ausnahme des zuletzt genannten - auch quantitativ bestimmt: Galactose, Glucose, Mannose, Fructose, Arabinose, Xylose, Fucose, Ribose, Rhamnose 3,6-Anhydrogalactose; in der Reihenfolge zunehmender Wanderungsgeschwindigkeiten aufgeführt.

Ein unbekannter Zuckerfleck wurde gefunden bei einer Verteilerflüssigkeit Pyridin/Essigester/Wasser (11:40:6;v/v), Bodenflüssigkeit mit Essigester im Überschuß. Zu seiner präparativen Abtrennung in der Säule standen leider keine genügenden Mengen der in Frage kommenden Algen zur Verfügung. Es wurde jedoch festgestellt, daß es sich um eine einheitliche Substanz und kein Disaccharid handelt. Dazu wurde über einen

Papierbogen von 52 cm Breite eine größere Menge des betreffenden Hydrolysates durchgehend auf der Startlinie aufgetragen, nach Ausschneiden einiger schmaler Streifen in Laufrichtung nach der chromatographischen Verteilung durch Anfärben mit TTC-Base die Lage des gewünschten, den unbekannten Stoff enthaltenden Teils ermittelt, dieser aus dem Bogen herausgeschnitten und mit Wasser eluiert. Ein Teil der wässrigen Lösung wurde mit Schwefelsäure schwach angesäuert (ca. 0,1n H_2SO_4) und drei Stunden bei 100° gehalten. Bei erneuter chromatographischer Verteilung wurde wiederum nur ein Fleck, der etwas schwächer als der ursprüngliche war, auf der gleichen Stelle wie bei dem nicht nachhydrolysierten Anteil erhalten. Ein weiterer Fleck oder eine Verstärkung des gleichen Fleckes, die auf Spaltung eines Disaccharides oder Glycosides hindeuten würden, wurden nicht beobachtet.

5. Die Hydrolyse von Agar und die Bildung von Oxymethylfurfurol (OF) aus 3,6 Anhydrogalactose(AG).

Die folgende gestaffelt unterbrochene Hydrolyse gab einen Einblick in die Bildungsgeschwindigkeit von AG und OF

10 g Agar wurden mit 200 ml 0,5 n H_2SO_4 verrührt und unter Rückfluß auf dem Wasserbade erhitzt. Probeentnahmen gaben nach Neutralisation mit $CaCO_3$ folgende Reaktionen:

	TTC-Base bei 20° Reaktion für AG	Naphthoresorcin/HCl bei 20° Reaktion für OF
1. 15 Minuten	++	-
2. 30 "	++	-
3. 60 "	+	+
4. 120 "	+	++

R_F-Wert der AG (0,53) im Hydrolysat stimmte mit einem Kontrollpräparat (s. u.) überein.

Zur Isolierung von OF wurden 70 g Agar 2 Stunden mit 300 ml 0,5n H_2SO_4 bei 100° hydrolysiert. Nach Neutralisation des Hydrolysates mit $CaCO_3$ wurde das Filtrat im Vakuum auf 100 ml eingeengt. Daraus wurden durch fünfmaliges Ausschütteln

mit Essigester und Verdampfen desselben im Vakuum 2 g eines dunklen Öls gewonnen, das bei 0° kristallin erstarrte. R_F = 0,76 (Fucose/Xylosė-Trenngemisch). Es bildete ein Semicarbazon, welches, zwei mal aus Methanol-Äther umkristallisiert einen Schmelzpunkt Fp = 192° hatte; ein nach Haworth (44) hergestelltes Kontrollpräparat von OF hatte den gleichen R_F-Wert, sein Semicarbazon den gleichen Schmelzpunkt (Mischschmelzpunkt ohne Depréssion).

AG wurde über folgende Stufen dargestellt:

1. Galactose + $CH_3OH \xrightarrow{HCl}$ α-Methylgalactosid (49).

2. $\xrightarrow[\text{Pyridin}]{p\text{-}MeC_6H_4SO_2Cl}$ 6-Tosyl-α-methylgalactosid (50).

3. $\xrightarrow[C_2H_5OH,60°]{n\ NaOH}$ Methylglycosid der AG (51).

Bei der Behandlung mit heißer verdünnter Säure wird die AG aus dem Methylglycosid in Freiheit gesetzt und dann weiter zu OF zersetzt. R_F-Wert der AG 0,53 (Xylose/Fucose - Trenngemisch).

0,5 g AG-Methylglycosid wurden in 10 ml 0,5n H_2SO_4 zwei Stunden auf dem kochenden Wasserbad unter Rückfluß erhitzt. Die anfänglich farblose Lösung war nach dieser Zeit braun geworden; an der Glaswand des Kölbchens hatte sich ein Ring dunkler Zersetzungsprodukte niedergeschlagen. Ein Tropfen gab mit Naphthoresorcin/HCl bei Zimmertemperatur kräftige Rotfärbung. Die Lösung wurde nach Neutralisation mit $CaCO_3$ mit Essigester ausgeschüttelt. Das nach dem Verjagen des Esters hinterbliebene braune Öl erstarrte bei 0° kristallin, R_F = 0,76 , gab mit Naphthoresorcin bei 20° Rotfärbung und bildete ein Semicarbazon Fp = 191-192°. (Mischschmelzpunkte mit den aus Agar oder Saccharose (44) gewonnenen Semicarbazonen ohne Depression).

Die Reaktion des OF mit TTC-Base auf dem Papierchromatogramm war bei 20° negativ und auch bei 72° (Wasserdampf) war nur eine schwache Rötung infolge Formazanbildung zu erkennen.

Mit Naphthoresorcin + 80%iger Phosphorsäure oder HCl-Dampf entstand bei Zimmertemperatur sofort ein orangeroter Farbfleck. Eine Rot- bzw. Orangefärbung wurde außerdem mit 2,4-Dinitrophenylhydrazin + 2 n HCl bzw. Phenylhydrazin-acetat bei 20° erhalten. Anilinphthalat gab Braunfärbung bei 110°. Die auf $p_H = 7$ eingestellten Indikatoren Bromkresolpurpur und Bromthymolblau zeigten Farbumschlag nach gelb, was auf der Bildung von Oxymethylfurancarbonsäure oder Lävulinsäure während der chromatographischen Operationen beruhen dürfte.

Literaturangaben

1. A. Haug und A. Jensen. Seasonal variations in the chemical composition of Alaria esculenta, Laminaria saccharina, L. hyperborea and L. digitata from northern Norway. Norsk institutt for tang- og tareforskening, Report No. 4 (1954).

2. H. Nebel. Dissertation Würzburg (1956)

3a. G. Klein. Handb.d.Pflanzenanalyse, Bd.1 Springer 1932

3b " " " " " , Bd.2,Tl.I " "

3c. " " " " " , Bd.2,Tl.II " "

4. F.G. Fischer u. H. Dörfel. Die quantitative Bestimmung reduzierender Zucker auf Papierchromatogrammen. Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. 297, 164 (1954).

5. G. Dietrich. Dissertation, Würzburg (1956).

6. F.G.Fischer u. H. Dörfel. Die Polyuronsäuren der Braunalgen. Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. 302, 186 (1955).

7. F.G. Fischer u. H. Dörfel Zur quantitativen Auswertung der Papierchromatogramme von Eiweißhydrolysaten. Biochem. Zeitschr. 324, 544 (1953).

8. H.G. Aach. Die Grünalge Chlorella als Nahrungsmittel. "Kosmos", Heft 8, August 1955, S. 352. Frankh'sche Verl.Buchhdlg. Stuttgart.

9. F.E. Fritsch. The Structure and Reproduction of the Algae. Cambridge, University press (1948). a. Teil I, b. Teil II.

10. W.A.P. Black. Constituents of the Marine Algae. Annual reports 50, 322 (1954).

11. W.A.P. Black, W.I. Cornhill and E.T.Dewar. J. Sci. Food Agric. 3, 542 (1952).

12. H. Nebel. Kohlenhydrate in Braunalgenhydrolysaten. Würzburg (1955), unveröffentlicht.

13. B. Schröder. Untersuchungen über Gallertbildung bei Algen. Verh.Nat.-Med.Ver., Heidelberg, N.F. 7, 139 (1902).

14. G. Klebs. Über die Organisation der Gallerte bei einigen Algen und Flagellaten. Unters. Bot. Inst., Tübingen 2, 333 (1886).

15. S. Miyake, K. Hayashi, Y. Takimo. J. soc. Trop. Agr. Tohoku Imp. Univ. 10, 232 (1938).

16. S. Miyake, K. Hayashi. ebd. 11, 269 (1939).

17. F.W. Norris. Annnual reports 39, 2 (1942)

18. J. König und J. Bettels. Die Kohlenhydrate in Meeresalgen und daraus hergestellter Erzeugnisse. Zeitschr.f.Unters. Nahr. u. Gen.mittel 10, 457 (1905).

19. A. Müther und B. Tollens. Über die Produkte der Hydrolyse von Seetang usw. Ber.d.dtsch.Chem. Ges. 37, 298 (1904).- Über die Fucose und Fuconsäure. ebd. S.306.

20. Max Lüdtke. Untersuchungen über Agar. Biochem. Zeitschr. 212, 419 (1929).

21. M.M.T. Plant and E.D. Johnson. Nature 147, 390 (1941).

22. Miss Joyce W.E.Brading, D.M.Hardy, Mrs. M.N.T.Georg-Plant The Polysaccharide from the Alga Ulva lactuca. J. Chem.soc. (1954), 319.

23. H. Kylin. The Chemical Structure of the Cellwalls of Ulva lactuca. Kgl. Fysiograf. Sällskap. Lund, Förh. 16, 102 (1946). s.auch C.A. 41, 6605.

24. L.H. Tiffany. A Physiological Study of Growth and Reproduction among certain Algae. Ohio Journ. Sci. 24, 65 (1924).

25. E.M. Wurdach. Chemical Composition of the Wall of certain Algae. ebd. 23, 181 (1923).

26. H. Kylin. Zur Biochemie der Meeresalgen. Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. 83, 171 (1913).

27. E. Nicolai and R.D. Preston. Proc. Roy. Soc. (London) B 140, 244 (1952). s.a. Th. Dillon. Congr. internat. botan., Paris Rapps et Comuns. 8, Sect. 17, 32 (1954).

28. H. Kylin. Über die Biochemie der Phaeophyceen. Kgl. Fysiograf. Sällskap. Lund, Förh. 14 Nr. 18 (1944), Kylin. 13, Nr. 6 (1943), S.73.

29. C. Wisselingh. Über die Zellwand von Closterium. Zeitschr. Botan. 4, 337 (1912). Zit. in 9 a.

30. P. Hauptfleisch. Zellmembran und Hüllgallerte der Desmidiaceen. Mitteil. Naturw. Ver. Neuvorpommern und Rügen. (1888). (Diss. Greifswald 1888). Zit. in 9a.

31. J. Lütkemüller. Die Zellmembran der Desmidiaceen. Beitr. z. Biol. der Pflanzen, 8, 347 (1902). Zit. in 9a.

32. F. Pannini. Osservazioni sulla sostanza fondamentale nella membrana cellulare di diverse Alghe. Atii I-st. Veneto Sci. ed. Art. 84, II, 57 (1924/25)

33. R. Mirande. Recherches sur la composition chimique de la membrane et le morcellement du thalle chez les Siphonales. Ann. Sci. nat. Bot. IX, 18, 147 (1913).

34. C. Correns. Über die Membran von Caulerpa. Ber.d.Dtsch. Botan. Ges. 12, 355 (1894). Zit. in 9a.

35. R. Mirande. Sur la présence de la callose dans la membrane des alg. mar. Compt. Rend. 156, 475 (1913).

36. E. Zacharias. Über Bildung und Wachstum der Zellhaut bei Chara foetida. Ber.d.Dtsch.Botan. Ges. 8, 56 (1890). Zit. in 9a.

37. C. Correns. Zur Kenntnis der inneren Struktur einiger Algenmembranen. Zimmermanns Beitr. Morph. u. Physiol. d. Pflanzenzelle, 1, 260 (1893). Zit. in 9a.

38. L. Mangin. Observations sur les Diatomées. Ann. Sci. Nat. Bot. IX, 8, 177 (1908). Zit. in 9.

39. L. Mangin. Sur l'emploi du rouge du Ruthénium en anat. végét. Compt. Rend. 116, 653 (1893).Zit.in 9

40. V.J.Chapman. Seaweeds and their uses. Methuen & Co. Ltd. London, 1950.

41. Yugi Morimura and Nobuko Tamiya. Preliminary experiments in the use of Chlorella as human food. Food and Technology 8, 179 (1954).

42. A.G. Ross. Some typical analyses of red seaweeds. J. sci. Food Agric. (1954). 333.

43. H.W. Milner. The chemical Composition of Algae. Aus "Algal Culture" from Laboratory to pilot Plant. S. 285 (1953). Ed. by J. S. Burlew, Carnegie Inst. of Washington.

44. W.N. Haworth. J. chem. Soc. (1944), 667.

45. W.G.M. Jones and S. Peat. The Constitution of Agar. J. chem. Soc. 225 (1942).

46. E.G.V. Percival, J.C.Somerville, J.A. Forbes. Isolation of an Anhydrosugar derivative from Agar. Nature 142, 797 (1938).

47. T.C. Cottrell and E.G.V. Percival. Studies on Agar-Agar. Isolation of Hepta-acetyl DL-Galactose from 3,6-Anhydro-ß-methyl-D-Galactoside. J. chem. Soc. 749 (1942).

48. E.G.V. Percival and G.H.Thomson. Studies on Agar-Agar. ebd. S. 750.

49. F. Micheel. Annal. d. Chem. 466, 124 (1928).

50. W.N. Haworth, Jackson, Smith. J. chem. Soc. 620 (1940).

51. H. Ohle und H. Thiel. Ber. d. dtsch. chem. Ges. 66, 525 (1933).

52. R.L.Whistler and C.L.Smart. Polysaccharide Chemistry. Acad. Press Inc. Publishers, New York 1953.

53. P.Haas and T.G. Hill. Observations of the metabolism of certain seaweeds. Ann. Botany 47, 55 (1933). Zit. aus C.A.(1933), 4269[4]

54. E.G.V.Percival and J.Somerville. The Acetylation and Methylation of Agar-Agar and the Isolation of 2,4,6-Trimethyl--d-Galactose by Hydrolysis. J.chem.Soc. 1615 (1937).

55. H. Kylin. Linsbauer "Handbuch der Pflanzenanatomie", Bd. VI, 2 B, Borntraeger, Berlin 1937 . Zit. in 10.

56. H Kylin. Hoppe-Seylers Z.physiol. Chem. 94,337 (1915).

57. V.C. Barry, T.G. Halsall, E.L. Hirst, J.K.N.Jones. The Polysaccharides of the Florideae. Floridean Starch. J. chem. soc. 1468 (1949).

58. H. Colin E. Guéguen. Compt. Rend. 197, 1688 (1933). Zit. in 10.

59. H. Colin. Bull.soc.chim. 4, 277 (1937) Zit. in 10.

60. H. Kylin. Weitere Beiträge zur Biochemie der Meeresalgen. Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. 101, 236 (1918).

61. J.W. Foster. Chem. Activities of Fungi. Academic Press Inc. New York. 1949.

L e b e n s l a u f

Familienname:	A g r i c o l a
Vornamen:	Rudolf, Walter, Hermann
geboren am:	7. 8. 1920
in:	Königsberg/Ostpr.
Eltern:	Oberregierungsrat Werner Agricola (verstorben)
	Hildegard, geb. Kleckl
Ausbildungsgang:	
Grundschule:	von Ostern 1927 bis Ostern 1931
Humanistische Gymnasien:	in Königsberg und Erfurt von Ostern 1931 bis Ostern 1937
Oberschule für Jungen:	in Putbus/Rügen von Ostern 1937 bis September 1940
Reifevermerk	24. 9. 1940
Unterbrechung durch Wehrdienst:	Von Oktober 1940 bis April 1945
Kriegsgefangenschaft:	Von April 1945 bis Februar 1946
Weitere Ausbildung:	
Förderkurs:	von Mai 1946 bis September 1946 Oberschule für Jungen, Minden/Westf.
Reifeprüfung:	12. 9. 1946, Obersch.f.Jg., Minden/Westf.
Chemiestudium:	Wintersemester 1946 bis Sommersemester 1956 in Würzburg
Diplom-Vorexamen:	8.2.1950 in Würzburg. Note: Bestanden
Diplom-Hauptexamen:	11.12.1954 in Würzburg. Note: 3 = befriedigend
Verheiratet:	mit der Postassistentin Brigitte Koos, seit 10.3.1953. Keine Kinder.

Ich habe mich bisher bei keiner anderen Fakultät um den Doktorgrad beworben.